

機関番号：83902

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2010

課題番号：20800086

研究課題名（和文） 神経疾患関連分子セプチンの神経細胞における分子機能解析

研究課題名（英文） Investigation of the molecular functions of Septin family molecules

研究代表者

篠田 友靖（SHINODA TOMOYASU）

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・研究員

研究者番号：80505652

研究成果の概要（和文）：セプチンファミリー分子は真核細胞にて高度に保存されている分子群であり、いくつかのファミリー分子は神経組織に特異的な発現を示す。一方、神経細胞におけるセプチンファミリー分子の分子機能は、現在までにほとんど解明されていなかった。本研究の結果、同ファミリー分子の Sept14 および Sept4 が大脳皮質形成時において興奮性神経細胞の移動過程に重要な役割を果たすことが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Septin family molecules are highly conserved in eukaryotic cells. Although several septins are specifically expressed in neuronal tissues, little is known about their physiological functions. Our research revealed that Sept14 is involved in cortical neuronal migration during corticogenesis, via interaction with Sept4.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1340000	402000	1742000
2009 年度	1200000	360000	1560000
年度			
年度			
年度			
総計	2540000	762000	3302000

研究分野：細胞生物学

科研費の分科・細目：神経科学一般

キーワード：大脳皮質、神経発生、細胞遊走

1. 研究開始当初の背景

Septin は真核細胞生物において高度に保存されている GTP 結合タンパク群であり、分子ファミリー (Sept1～Sept14) を形成している。Septin ファミリー分子は、精神・神経疾患の発症との関連性が以前から報告されている。一方で Septin の分子機能およびその作用機序については不明な点が多く、多く発現が見られる神経組織において Septin が如何なる機能を持つのかは全くと言ってよいほど見解が無かった。

2. 研究の目的

高等生物において神経系が正常な機能を発揮するにあたり、1) 神経細胞の発生・分化、2) 個々の神経細胞の適切な領域への移動、3) 神経細胞同士もしくは神経-投射先組織間での適切なシナプス形成が必須である。現在ではこのような神経回路構築の過程における異常が統合失調症を始めとする精神神経疾患や自閉症・広汎性発達障害の一因である可能性が広く認知されている。本研究では精神・神経疾患との関連が示唆されているタンパク質、Septin に焦点を絞り、Septin の神経発生における分子機能およびその作用機序の解明を通じて、精神神経疾患の病態解明

の基礎とすることを最終目標とする。

3. 研究の方法

(1)各 Septin ファミリー分子に特異的な抗体を用いて、大脳皮質発生期の終脳における発現様式を検討する。これによって大脳皮質層形成に関連する可能性のある Septin 分子を絞り込み、以降の実験に進む。

(2)上記にて発現が認められた Septin 分子については、RNAi と子宮内遺伝子導入法を組み合わせた発現抑制実験を行い、興奮性皮質神経細胞の発生における分子機能をマウス個体レベルで検討する。具体的には、1)ノックダウン細胞の細胞分化過程、2)同細胞の脳室帯から皮質板への遊走過程、3)移動終了後の成熟過程を観察することで、Septin 分子がどのステップにおいて機能するかを見出す。

4. 研究成果

(1)特異的な抗体を用いた発現解析の結果、Septin ファミリー分子の中の Sept14 が発生時の大脳皮質の中間帯～皮質板に特異的な発現様式を示すことが明らかになった。

(2)子宮内遺伝子導入法を用いて脳室帯細胞に Sept14 特異的な siRNA duplex を導入した結果、導入細胞の皮質板における局在異常が観察された(図1)。また異所的局在を示した神経細胞は通常的な錐体形態ではない形状を取ることを同時に見出した。

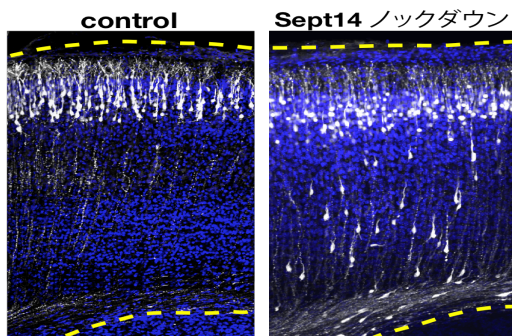


図1 : Sept14 の発現抑制は興奮性皮質神経細胞の局在異常を生じる

(3)Sept14 の分子作用機序を検証するために、Sept14 の相互作用分子スクリーニングを実施した。その結果セプチンファミリー分子である Sept4 を相互作用分子として同定した。Sept14 の分子機能検証(前述)と同様の実験を行った結果、Sept4 も興奮性皮質神経細胞の遊走過程に関与する事が明らかになった。また Sept14 と Sept4 の相互作用領域を決定し、両分子の相互作用が神経細胞遊走に必要

であることを見出した。

(4)遊走中の双極性形態の皮質神経細胞の形態に着目して観察を行った結果、Sept14 および Sept4 のノックダウン細胞では、先導突起の短縮が認められた(図2)。

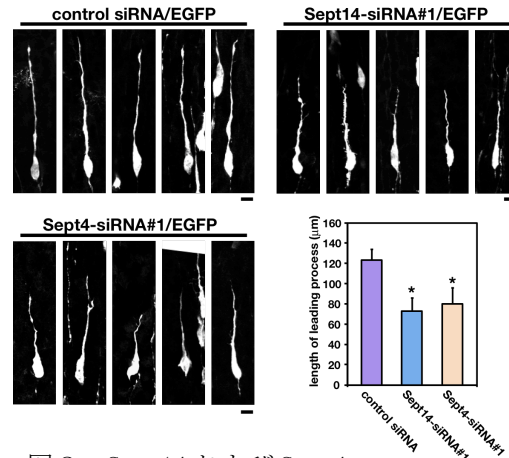


図2 : Sept14 および Sept4 の発現抑制により先導突起の短縮が生じる

(5)以上の知見から、septin ファミリー分子の Sept14 および Sept4 は皮質神経細胞の遊走時にその形態を制御することによって、その遊走に機能的関与をすることが明らかになった(Shinoda et al, *MBoC*, 2010)。

(6)Sept14 および Sept4 の神経細胞遊走におけるその作用機序を解明するために、両分子の相互作用分子の網羅的スクリーニングを実行した。その結果、細胞骨格タンパクの regulator として既に報告されている分子が、複数候補分子として同定された。候補分子と各 Septin 分子の結合、およびその生理学的意義については現在解析中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

① Shinoda T, Ito H, Sudo K, Iwamoto I, Morishita R, Nagata K. Septin 14 is involved in cortical neuronal migration via interaction with Septin 4. *Molecular Biology of the Cell* 21, 1324-1334, 2010 査読有り

② Ito H, Morishita R, Shinoda T, Iwamoto I, Okamoto K, Nagata K. Dysbindin-1, WAVE2 and Abi-1 form a complex that regulates

dendritic spine formation. *Molecular Psychiatry* 15, 976-986, 2010 査読有り

③ Hikita T, Taya S, Fujino Y, Taneichi-Kuroda S, Ohta K, Tsuboi D, Shinoda T, Kuroda K, Funahashi Y, Uraguchi-Asaki J, Hashimoto R, Kaibuchi K. Proteomic analysis reveals novel binding partners of dysbindin, a schizophrenia-related protein. *Journal of Neurochemistry* 110, 1567-1574, 2009 査読有り

[学会発表] (計 12 件)

①篠田友靖 '大脳皮質形成における Septin ファミリー分子の機能' 愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所公開シンポジウム, 2010/12/22, 愛知

②篠田友靖ほか 'Molecular mechanism of septin-mediated neuronal migration' BMB2010, 2010/12/08, 神戸

③Shinoda T et al, 'Sept14 is involved in neuronal migration via interaction with Sept4' Neuroscience2010, 2010/11/13, San Diego

④篠田友靖ほか 'Septin の大脳皮質形成における機能および分子メカニズム' Neuro2010, 2010/09/08, 神戸

⑤篠田友靖ほか 'Septin 14 is involved in cortical neuronal migration via interaction with Septin 4' 第 74 回生化学会中部支部例会・シンポジウム, 2010/06/23, 名古屋

⑥ 篠田友靖ほか 'Roles of Septins in Neuronal Migration' 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009/12/10, 横浜

⑦篠田友靖ほか 'Novel function of Septin in neuronal migration' 名古屋大学グローバル COE プログラム第 2 回国際シンポジウム, 2009/11/18, 名古屋

⑧篠田友靖ほか 'Sept14 の大脳皮質形成における機能' Neuro2009, 2009/09/06, 名古屋

⑨ 篠田友靖ほか 'Sept14 is involved in proper positioning of cortical pyramidal neuron' 名古屋大学グローバル COE プログラム第 1 回国際シンポジウム, 2009/01/22, 名古屋

⑩篠田友靖ほか 'Possible function of a multiadaptor protein, p140Cap, in exocytosis' 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会, 2008/12/10, 神戸

⑪篠田友靖ほか 'Sept14 の皮質神経細胞局在化における機能' 第 51 回日本神経化学会, 2008/09/08, 富山

⑫篠田友靖ほか '統合失調症発症脆弱性因子 DISC1 の機能解析' 第 72 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム, 2008/05/20, 岐阜

[図書] (計 2 件)

①伊東秀記、篠田友靖、永田浩一「SNARE 複合体形成におけるセプチンの役割」生体の科学 61, 242-246, 2010

②篠田友靖「統合失調症脆弱性遺伝子 DISC1 の生理機能」Medical Science Digest 34, 5-6, 2008

[その他]

ホームページ等

<http://www.inst-hsc.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

篠田 友靖 (SHINODA TOMOYASU)

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・研究員
研究者番号：80505652

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

